

绞股蓝热处理产物中活性成分的纯化与鉴定及其对A549细胞的抑制活性

朴香兰, 杨 静, 吴 倩, 曾 鸣, 刘慧敏

(中央民族大学中国少数民族传统医学研究院, 北京 100081)

摘 要: 目的: 提取、分离、鉴定绞股蓝热处理产物中抑制肺癌A549细胞的活性成分。方法: 绞股蓝叶在温度125℃、压力0.24MPa条件下, 加热处理3h, 用80%乙醇加热回流提取3h, 利用活性跟踪方法, 通过大孔树脂HP-20及反相柱等分离手段, 分离抑制肺癌A549细胞的活性成分, 并用核磁共振波谱(^1H -NMR、 ^{13}C -NMR)、电喷雾质谱(ESI-MS)等数据鉴定有效成分。结果: 绞股蓝热处理产物中分离得到2个达玛烷类皂苷, 分别为绞股蓝皂苷Gypenoside L和Gypenoside LI, 而且它们对肺癌A549细胞具有质量浓度依赖性的抑制活性($P < 0.05$), 其 IC_{50} 值分别为 $(48.43 \pm 1.33) \mu\text{g/mL}$ 和 $(34.35 \pm 0.88) \mu\text{g/mL}$ 。结论: 热处理绞股蓝产物可提高对肺癌A549细胞的抑制作用, 其中有效成分为达玛烷类皂苷Gypenoside L和Gypenoside LI。

关键词: 热处理绞股蓝; 肺癌A549细胞; 达玛烷类皂苷; Gypenoside L; Gypenoside LI

Purification, Identification and Anti-A549 Cell Activity of Gypenosides from Thermally Processed *Gynostemma pentaphyllum* Leaves

PIAO Xiang-lan, YANG Jing, WU Qian, ZENG Ming, LIU Hui-min

(Institute of Chinese Minority Traditional Medicine, Minzu University of China, Beijing 100081, China)

Abstract: Objective: To extract, separate and identify anti-A549 cell constituents from thermally processed *Gynostemma pentaphyllum* leaves. Methods: *Gynostemma pentaphyllum* leaves were processed at 125 °C and 0.24 MPa for 3 h and subjected to heat reflux extraction with 80% ethanol for 3 h. Anti-A549 cell constituents in the extract were separated using HP-20 macroporous adsorption resin and a reversed-phase column by means of bioassay-guided separation and identified by ^1H -NMR, ^{13}C -NMR and ESI-MS. Results: Two dammarane-type saponins were obtained and identified as gypenoside L and gypenoside LI, respectively. Both gypenosides had a concentration-dependent inhibitory effect on A549 cells with IC_{50} values of $(48.43 \pm 1.33) \mu\text{g/mL}$ and $(34.35 \pm 0.88) \mu\text{g/mL}$, respectively. Conclusion: Thermally processed *Gynostemma pentaphyllum* leaves have a notable inhibitory effect on A549 cells, which is associated with the presence of gypenoside L and gypenoside LI.

Key words: thermally processed *Gynostemma pentaphyllum*; lung cancer A549 cells; dammarane-type saponin; gypenoside L; gypenoside LI

中图分类号: R282.71

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2012)23-0023-04

绞股蓝为葫芦科(Cucurbitaceae)绞股蓝属(*Gynostemma*)绞股蓝*Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino的全草^[1], 具有清热解毒, 止咳祛痰功能。由于绞股蓝含有与人参相似的达玛烷类皂苷, 又被冠予“南方人参”、“第二人参”的美誉^[2, 5-7], 此外, 绞股蓝还含有多糖类^[3-4]、黄酮类成分^[8]、氨基酸^[9]、无机盐^[10]等。现代药理学表明, 绞股蓝具有抗癌作用、抗氧化作用、降血糖作用^[11]、降血脂作用^[11-12]、增强免疫作用等。国内主要产区在长江以南, 中国的陕西、云南、湖北、湖南、

广东、广西、福建等地。目前国内有绞股蓝茶、绞股蓝浓缩汁、绞股蓝龙须茶、富硒养生茶等多个系列产品。

绞股蓝中最主要的药效成分是皂苷类成分。研究表明, 人参属植物中抗癌活性与低极性、稀有或微量人参皂苷直接相关, 如稀有人参皂苷Rh2、Rg3、Rb3等药效更为珍贵, 在某些难治性疾病肿瘤治疗方面显示独特的疗效^[13-14]。但是在天然植物中人参皂苷Rb1含量较高, 而Rg3、Rh2、Compound K等含量甚微。对于有些有较强活性的稀有皂苷, 来源有限而且存在于植物内含量较低,

收稿日期: 2011-10-06

基金项目: 国家自然科学基金项目(30973960; 81011140347; 81181240306; 81274186)

作者简介: 朴香兰(1965—), 女, 副教授, 博士, 研究方向为天然药物化学。E-mail: xlpiao@163.com

用传统的分离方法,不但需要大量的药用资源,而且得率也低。因此,如何提高稀有活性成分的含量或获得更有活性的成分成为现代药学研究的重点。

利用高温高压方法,绞股蓝热处理产物与原药材相比,具有更强的抑制肺癌A549细胞活性。因此,利用色谱方法,分离、鉴定绞股蓝热处理产物的有效成分,并对它们进行A549细胞抑制活性检测。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

绞股蓝(*Gynostemma pentaphyllum*)购于同仁堂药店(北京),留样于中央民族大学中国少数民族传统医学研究院民族药物研究所实验室,并设样品号(GP2011-01)。

肺癌细胞A549由北京协和细胞资源中心提供。

大孔树脂 日本三菱化学(日本);小牛血清及DMEM培养基 美国Gibco公司;乙腈(色谱纯) 美国Grace公司;水为超纯水;其余化学试剂均为分析纯,购自天津市凯信化学工业有限公司。

1.2 仪器与设备

TQD LC-MS 色谱仪 美国Waters公司;DPBRU-KER DPX 300核磁共振仪 瑞士布鲁克公司。LDZM-60KCS立式压力蒸汽灭菌器 上海申安医疗器械厂;ZORBAX Extend-C₁₈色谱柱(150mm×4.6mm, 5μm) 美国Agilent公司;FlexStation 3酶标仪 美国Molecular Devices公司。

1.3 方法

1.3.1 绞股蓝的热加工处理与提取

绞股蓝(10kg),在温度125℃、压力0.24MPa条件下加热3h,用8倍量的80%乙醇加热回流提取3次,每次提取3h,得到1.353kg的绞股蓝热处理产物的乙醇提取物。原生药绞股蓝(10g)直接用12倍量的80%乙醇超声提取,得到原药绞股蓝的乙醇提取物。

1.3.2 绞股蓝热处理产物有效成分的分离

取1.0kg的绞股蓝热处理产物的乙醇提取物,加入适当的水混悬,上样于大孔树脂HP-20,分别用20%、50%、75%及95%乙醇溶液洗脱。通过肺癌A549细胞抑制实验,发现绞股蓝热处理产物的95%乙醇溶液洗脱物具有较强的抑制活性。取绞股蓝热处理产物的95%乙醇洗脱物(430g)进行硅胶柱色谱,以二氯甲烷-乙醇(10:1~4:1, V/V)梯度洗脱,薄层色谱配合检视,得到10个组分(HGP-95%-1~10)。第8个组分HGP-95%-8再经YMC反相柱色谱,50%~90%的乙醇溶液洗脱,得到6个组分(HGP-95%-8-1~6)。利用YMC反相柱色谱,以45%乙腈洗脱,从HGP-95%-8-4中分离得到2个单体化合物。用300M核磁共振仪检测化合物的¹H-NMR、¹³C-NMR、H-H COSY、HMBC、DEPT。

质谱条件:离子化模式为电喷雾离子化ESI⁻,毛细管电压:3kV;锥孔电压:60V;碰撞能电压:40eV;离子源温度:100℃;除溶剂温度:350℃;除溶剂气体:550L/h氮气;碰撞气体为氦气。

1.3.3 肺癌A549细胞培养

A549细胞株用含10%小牛血清的DMEM培养基,于37℃、5% CO₂饱和湿度条件下培养,2~3d传代1次。

1.3.4 不同质量浓度的热处理前后绞股蓝乙醇提取物对A549细胞的作用

取对数生长期细胞使其脱壁,用10%小牛血清DMEM培养液重悬成单细胞悬液。以1×10⁴个/孔密度将A549细胞接种于96孔板,用含10%小牛血清的DMEM培养液培养24h后,弃去原有细胞培养液,加入用DMEM培养液稀释的不同质量浓度的热处理前后绞股蓝乙醇提取物各200μL,每个质量浓度样品重复3孔。对照组只加含10%小牛血清的DMEM培养液。在培养48h后,每孔加入20μL的MTT溶液,于37℃、5% CO₂培养箱孵育4h,弃上清液后,每孔加入150μL的DMSO,振荡10min。利用酶标仪于490nm波长处检测吸光度。

$$\text{肿瘤细胞生长抑制率}/\% = \frac{A_{\text{对照组}} - A_{\text{实验组}}}{A_{\text{对照组}}} \times 100$$

1.3.5 统计学方法

每组结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,对照组与实验组间通过Microsoft Excel软件,用One-way ANOVA分析数据。 $P < 0.05$ 则可认为组间具有统计学的显著差异。

2 结果与分析

2.1 热处理前后绞股蓝提取物的成分变化

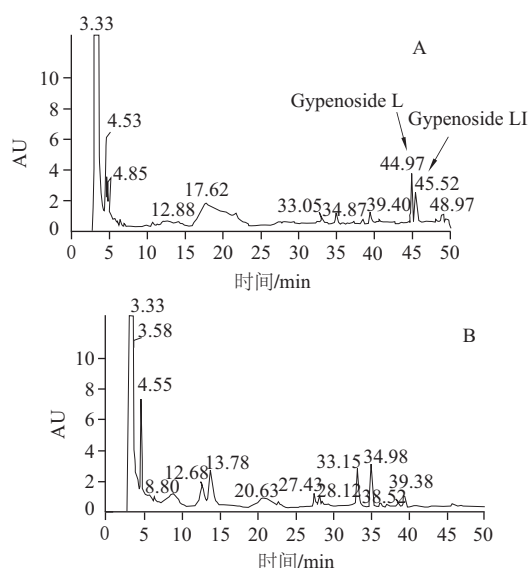


图1 绞股蓝热处理前(B)、后(A)乙醇提取物的HPLC

Fig.1 HPLC profiles of ethanol extracts from native and thermally processed *Gynostemma pentaphyllum* leaves

绞股蓝热处理产物的乙醇提取物具有较强的A549细胞抑制作用,由图1的HPLC分析可知,绞股蓝原药材的乙醇提取物在33.1min和34.9min处的2个峰,在绞股蓝热处理产物的乙醇提取物中几乎检测不到;绞股蓝热处理产物的乙醇提取物在44.9min和45.5min处检测到2个峰,而这2个峰在原药材的乙醇提取物几乎检测不到,表明绞股蓝在热处理过程中出现成分的转化或产生。

2.2 绞股蓝热处理产物有效成分的结构鉴定

热处理前后绞股蓝乙醇提取物进行肺癌A549细胞增生抑制实验结果,表明绞股蓝热处理产物的乙醇提取物显示质量浓度依赖性抑制肺癌A549细胞活性(数据未标)。通过大孔树脂HP-20分离、硅胶柱色谱、YMC反相柱色谱,从绞股蓝热处理产物中分离得到2个单体化合物。利用核磁共振谱、质谱等波谱,鉴定分离得到的2个化合物。

化合物1为白色粉末,分子式 $C_{42}H_{72}O_{14}$ 。在ESI-MS显示准分子离子峰 m/z : 799 $[M-H]^-$ 、637 $[M-H-162]^-$ 、475 $[M-H-162-162]^-$ 。在 1H -NMR (300 MHz, CD_3OD)中可观察到 δ 0.92 (6H, bs, H-29,30)、0.98 (3H, s, H-19)、1.00 (3H, s, H-18)、1.13 (3H, s, H-28)、1.14 (3H, s, H-21)、1.61 (3H, s, H-27)、1.68 (3H, s, H-26)等8个甲基峰,3.01 (1H, d, $J=9.3$ Hz, H-9),根据耦合常数获悉3位与2位的氢是反式结构,根据 δ 4.45 (1H, d, $J=7.5$ Hz, H-1'),4.75 (1H, d, $J=7.5$ Hz, H-1'')得知该化合物连有2个葡萄糖,并且均为 β -构型。 1H -NMR及 ^{13}C -NMR数据见表1。结合文献[15]确定化合物1为绞股蓝皂苷Gypenoside L(图2a)。

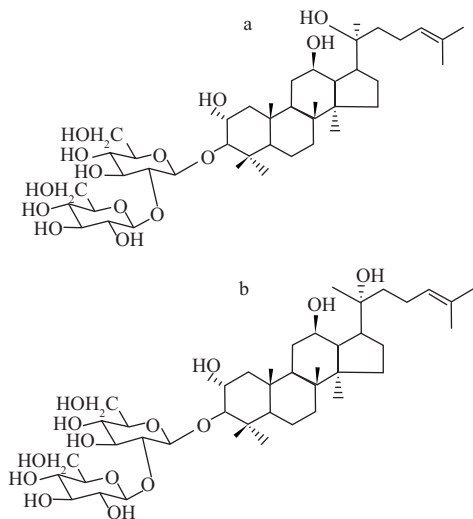


图2 绞股蓝热处理产物中分离得到的达玛烷类皂苷成分Gypenoside L和Gypenoside LI

Fig.2 Chemical structures of gypenoside L and gypenoside LI

化合物2为白色粉末,分子式 $C_{42}H_{72}O_{14}$ 。与化合物1一样,在ESI-MS显示准分子离子峰 m/z 799 $[M-H]^-$ 、637 $[M-H-162]^-$ 、475 $[M-H-162-162]^-$ 。与化合物1相比,在 1H -NMR中观察到 δ 1.62 (3H, s, H-21),显示20位是R构

型,而化合物1为S构型。在 ^{13}C -NMR中也与化合物1有所差异(表1)。结合文献[15]确定化合物2为绞股蓝皂苷Gypenoside LI(图2b)。

表1 绞股蓝热处理产物有效成分的核磁共振谱数据
Table 1 NMR spectral data of active constituents from thermally processed *Gynostemma pentaphyllum* leaves

序号	化合物1				化合物2			
	1H	^{13}C	DEPT		1H	^{13}C	DEPT	
1	2.13 (1H, m), 0.95 (1H, m)	47.8	CH ₂		2.14 (1H, m), 0.96 (1H, m)	47.9	CH ₂	
2	3.76 (1H, m)	68.0	CH		3.76 (1H, m)	68.1	CH	
3	3.01 (1H, d, $J=9.3$ Hz)	96.5	CH		3.01 (1H, d, $J=9.3$ Hz)	96.6	CH	
4		41.8	C			41.8	C	
5	0.85 (1H, m)	57.1	CH		0.86 (1H, m)	57.2	CH	
6	1.57 (1H, m), 1.53 (1H, m)	19.3	CH ₂		1.58 (1H, m), 1.56 (1H, m)	19.3	CH ₂	
7	1.53 (1H, m), 1.33 (1H, m)	35.7	CH ₂		1.56 (1H, m), 1.36 (1H, m)	35.8	CH ₂	
8		40.9	C			40.9	C	
9	1.33 (1H, m)	51.2	CH		1.52 (1H, m)	51.2	CH	
10		38.8	C			38.8	C	
11	1.86 (1H, m), 1.32 (1H, m)	32.2	CH ₂		1.89 (1H, m), 1.32 (1H, m)	32.2	CH ₂	
12	3.58 (1H, m)	71.9	CH		3.58 (1H, m)	71.8	CH	
13	1.74 (1H, m)	48.8	CH		1.75 (1H, m)	49.5	CH	
14		52.5	C			52.6	C	
15	1.53 (1H, m), 1.05 (1H, m)	32.0	CH ₂		1.56 (1H, m), 1.07 (1H, m)	32.0	CH ₂	
16	1.86 (1H, m), 1.30 (1H, m)	27.3	CH ₂		1.86 (1H, m), 1.29 (1H, m)	27.2	CH ₂	
17	2.04 (1H, m)	55.0	CH		2.06 (1H, m)	50.8	CH	
18	1.00 (3H, s)	16.2	CH ₃		1.02 (3H, s)	16.2	CH ₃	
19	0.98 (3H, s)	17.9	CH ₃		0.99 (3H, s)	17.9	CH ₃	
20		74.3	C			74.5	C	
21	1.14 (3H, s)	26.6	CH ₃		1.11 (3H, s)	22.4	CH ₃	
22	1.57 (1H, m), 1.36 (1H, m)	36.3	CH ₂		1.44 (1H, m), 1.42 (1H, m)	43.3	CH	
23	2.13 (1H, m), 1.98 (1H, m)	23.3	CH		2.09 (1H, m), 2.06 (1H, m)	22.8	CH ₂	
24	5.13 (1H, bt, $J=7.2$ Hz)	126.2	CH		5.10 (1H, bt, $J=7.2$ Hz)	126.0	CH	
25		131.9	C			131.9	C	
26	1.68 (3H, s)	25.9	CH ₃		1.67 (3H, s)	25.9	CH ₃	
27	1.61 (3H, s)	17.8	CH ₃		1.62 (3H, s)	17.8	CH ₃	
28	1.13 (3H, s)	28.7	CH ₃		1.13 (3H, s)	28.7	CH ₃	
29	0.92 (3H, s)	17.8	CH ₃		0.92 (3H, s)	17.7	CH ₃	
30	0.92 (3H, s)	17.2	CH ₃		0.92 (3H, s)	17.5	CH ₃	
1'	4.45 (1H, d, $J=7.5$ Hz)	104.7	CH		4.45 (1H, d, $J=7.5$ Hz)	104.8	CH	
2'	3.69 (1H, m)	80.7	CH		3.70 (1H, m)	80.7	CH	
3'	3.26 (1H, m)	78.1	CH		3.26 (1H, m)	78.2	CH	
4'	3.21 (1H, m)	72.0	CH		3.20 (1H, m)	72.0	CH	
5'	3.38 (1H, m)	77.9	CH		3.37 (1H, m)	77.9	CH	
6'	3.84 (1H, m), 3.64 (1H, m)	63.2	CH ₂		3.84 (1H, m), 3.64 (1H, m)	63.2	CH ₂	
1''	4.75 (1H, d, $J=7.5$ Hz)	104.3	CH		4.75 (1H, d, $J=7.8$ Hz)	104.4	CH	
2''	3.23 (1H, m)	76.1	CH		3.23 (1H, m)	76.1	CH	
3''	3.62 (1H, m)	78.5	CH		3.62 (1H, m)	78.6	CH	
4''	3.36 (1H, m)	71.1	CH		3.36 (1H, m)	71.2	CH	
5''	3.38 (1H, m)	77.9	CH		3.37 (1H, m)	78.0	CH	
6''	3.87 (1H, m), 3.67 (1H, m)	62.3	CH ₂		3.88 (1H, m), 3.66 (1H, m)	62.4	CH ₂	

2.3 绞股蓝热处理产物有效成分对A549细胞的抑制活性

表2 绞股蓝热处理产物有效成分对A549的抑制活性
Table 2 Inhibitory activity of gypenoside L and gypenoside LI on A549 cells

化合物	IC ₅₀ /(μ g/mL)
绞股蓝皂苷Gypenoside L	48.43 \pm 1.33
绞股蓝皂苷Gypenoside LI	34.35 \pm 0.88
人参皂苷Rg3	>100

利用肺癌A549细胞抑制活性检测方法,检测未热处理绞股蓝提取物的半数抑制率IC₅₀值大于1000 μ g/mL,而绞股蓝热处理产物的IC₅₀值达到76.59 μ g/mL^[16]。由表2可知,以人参皂苷Rg3作为阳性对照,比较绞股蓝热处理产物中分离得到的有效成分绞股蓝皂苷Gypenoside L和Gypenoside LI,结果它们均有质量浓度依赖性抑制A549细胞作用,而且它们均比人参皂苷Rg3活性强,其中

Gypenoside LI的抑制活性最强,其A549细胞的半数抑制率 IC_{50} 值为 $(34.35 \pm 0.88)\mu\text{g/mL}$ 。

3 结 论

肺癌目前是世界最常见的癌症死因之一,其中非小细胞肺癌(non-small cell lung carcinoma, NSCLC)约占肺癌的75%~85%。目前,非小细胞肺癌常见的放疗和化疗产生耐药性,而且他们往往超出手术治疗的阶段。因此,迫切需要新的治疗方法,以减少越来越高的肺肿瘤发病率^[17]。

随着化学合成药物副作用的不断出现,人们越来越对天然产物感兴趣和重视。绞股蓝在亚洲早已被用来作为民间医药。绞股蓝皂苷和人参皂苷一样也以达玛烷型四环三萜为主。在人参皂苷相同的母核结构中,母核的不同位置连接的糖链不同,产生的生物活性差异就很大。人参皂苷的结构因糖基侧链的不同,显示出的性质和功能也有较大差异。例如人参皂苷Rb1具有营养神经、保护心肌、改善记忆力、抗衰老、抗氧化、保肝等作用^[18-20],人参皂苷Rh2、Rg3具有抗肿瘤活性^[21-22],而人参皂苷Rg3仅仅是C20位比Rb1少两个糖基。高温处理可使人参中的部分皂苷转化成活性更强的成分^[23-24],并采用热加工转化技术已获取结构新颖的化合物,为新药的研制提供极为有价值的先导化合物,用此方法开发了人参加工品,并创造出巨大的经济效益^[25-26]。人参在高温高压处理后的产物产生较多的人参皂苷Rg3等,这与人参皂苷的糖键水解断裂有关^[27-28]。

绞股蓝皂苷作为与人参皂苷结构相似的化合物,研究其化学成分及皂苷转化具有很好的现实意义。目前常用的改变皂苷糖链的方法如采用化学法、组织培养法、微生物转化法等获取人参皂苷^[29]。

本课题组利用热处理方法,在125℃、0.24MPa条件下处理3h,使绞股蓝热处理产物与原药材相比,具有更好的抑制肺癌A549细胞的作用。其有效成分主要有C20位为 α -OH和 β -OH的绞股蓝皂苷Gypenoside L和Gypenoside LI。综上所述,热加工可作为一种方法,从天然物中获得或得到更多的活性成分。

参考文献:

- [1] 梁启成,钟鸣.中国药理学[M].南宁:广西民族出版社,2005.
- [2] 张涛,袁弟顺.中国绞股蓝种质资源研究进展[J].云南农业大学学报,2009,24(3):459-469.
- [3] YIN Feng, ZHANG Yinan, YANG Zhengyi, et al. Nine new dammarane saponins from *Gynostemma pentaphyllum*[J]. Chem Biodivers, 2006, 3(7): 771-782.
- [4] HUANG T H, LI Y, RAZMOVSKI-NAUMOVSKI V, et al. Gypenoside XLIX isolated from *Gynostemma pentaphyllum* inhibits nuclear factor-kappaB activation via a PPAR-alpha-dependent pathway[J]. J Biomed Sci, 2006, 13(4): 535-548.
- [5] LIU Xin, YE Wencai, MO Ziyao, et al. Three dammarane-type saponins from *Gynostemma pentaphyllum*[J]. Planta Med, 2005, 71(9): 880-884.
- [6] HU Jianhong, LI Qingwang, ZHANG Ting, et al. Effect of *Gynostemma pentaphyllum* polysaccharide on boar spermatozoa quality following freezing-thawing[J]. Cryobiology, 2009, 59(3): 244-249.
- [7] YANG Xingbin, ZHAO Yan, YANG Ying, et al. Isolation and characterization of immunostimulatory polysaccharide from an herb tea, *Gynostemma pentaphyllum* Makino[J]. J Agric Food Chem, 2008, 56(16): 6905-6909.
- [8] KAO T H, HUANG S C, INBARAJ B S, et al. Determination of flavonoids and saponins in *Gynostemma pentaphyllum*(Thunb.) Makino by liquid chromatography-mass spectrometry[J]. Anal Chim Acta, 2008, 626(2): 200-211.
- [9] 徐翠凤,罗嘉梁,王碧兰,等.绞股蓝化学成分分析[J].林产化工通讯,1994(2):3-6.
- [10] 彭小列,刘世彪.有开发前景的植物性饲料添加剂-绞股蓝[J].河北畜牧兽医,2005,21(8):40-41.
- [11] MEGALLI S, DAVIES N M, ROUFOGALIS B D. Anti-hyperlipidemic and hypoglycemic effects of *Gynostemma pentaphyllum* in the Zucker fatty rat[J]. J Pharm Pharm Sci, 2006, 9(3): 281-291.
- [12] HUANG T H, TRAN V H, ROUFOGALIS B D, et al. Gypenoside XLIX, a naturally occurring PPAR-alpha activator, inhibits cytokine-induced vascular cell adhesion molecule-1 expression and activity in human endothelial cells[J]. Eur J Pharmacol, 2007, 565(1/3): 158-165.
- [13] 李学哲,朴惠顺.人参皂苷Rh2含量测定方法及药理作用研究现状[J].延边大学医学学报,2009,32(2):153-156.
- [14] WANG Chongzhi, XIE Jingtian, FISHBEIN A, et al. Antiproliferative effects of different plant parts of *Panax notoginseng* on SW480 human colorectal cancer cells[J]. Phytother Res, 2009, 23(1): 6-13.
- [15] TAKEMOTO T, ARIHARA S, YOSHIKAWA K, et al. Studies on the constituents of cucurbitaceae plants. xii. on the saponin constituents of *Gynostemma pentaphyllum* Makino (8)[J]. Yakugaku Zasshi, 1984, 104(11): 1155-1162.
- [16] 朴香兰,吴倩,杨静,等.绞股蓝热处理产物对A549细胞的抑制活性[J].中央民族大学学报:自然科学版,2012,21(1):49-53.
- [17] TAKAHASHI T. Lung cancer: an ever increasing store of in-depth basic knowledge and the beginning of its clinical application[J]. Oncogene, 2002, 21(45): 6868-6869.
- [18] 王立青,江荣高.人参皂苷Rb1的药理活性[J].国外医药:植物药分册,2005,20(6):245-248.
- [19] 贾继明,王宗权,吴立军,等.人参皂苷Rb1的药理活性研究进展[J].中国中药杂志,2008,33(12):1371-1377.
- [20] NG T B. Pharmacological activity of sanchi ginseng(*Panax notoginseng*)[J]. J Pharm Pharmacol, 2006, 58(8): 1007-1019.
- [21] CWIKOWSKA M, PRUCHNIK F P, STAROSTA R, et al. Dinuclear Rh(II) complexes with one polypyridyl ligand, structure, properties and antitumor activity[J]. Inorganica Chimica Acta, 2010, 363(11): 2401-2408.
- [22] ZHANG Qingyuan, KANG Xinmei, ZHAO Weihui. Antiangiogenic effect of low-dose cyclophosphamide combined with ginsenoside Rg3 on Lewis lung carcinoma[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2006, 342(3): 824-828.
- [23] PARK I H, KIM N Y, HAN S B, et al. Three new dammarane glycosides from heat processed ginseng[J]. Arch Pharm Res, 2002, 25(4): 428-432.
- [24] PARK I H, HAN S B, KIM J M, et al. Four new acetylated ginsenosides from processed ginseng(sun ginseng)[J]. Arch Pharm Res, 2002, 25(6): 837-841.
- [25] LEE Y J, KIM H Y, KANG K S, et al. The chemical and hydroxyl radical scavenging activity changes of ginsenoside-Rb1 by heat processing[J]. Bioorg Med Chem Lett, 2008, 18(16): 4515-4520.
- [26] LEE W H, CHOI J S, KIM H Y, et al. Heat-processed neoginseng, KG-135, down-regulates G1 Cyclin-dependent kinase through the proteasome-mediated pathway in HeLa cells[J]. Oncol Rep, 2009, 21(2): 467-474.
- [27] KIM W Y, KIM J M, HAN S B, et al. Steaming of ginseng at high temperature enhances biological activity[J]. J Nat Prod, 2000, 63(12): 1702-1704.
- [28] YOO H H, KWON S W, PARK J H. The cytotoxic saponin from heat-processed *Achyranthes fauriei* roots[J]. Biol Pharm Bull, 2006, 29(5): 1053-1055.
- [29] 赵方允,陈自宏,虞泓,等.微生物转化人参皂苷研究进展[J].中国医药生物技术,2010,5(3):216-219.